



TITLE:

Protective Strategies for Enhancing Engraftment of Insulin Releasing Cells(Digest_要約)

AUTHOR(S):

Takemoto, Naohiro

CITATION:

Takemoto, Naohiro. Protective Strategies for Enhancing Engraftment of Insulin Releasing Cells. 京都大学, 2014, 博士(工学)

ISSUE DATE:

2014-03-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18289>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は2015-03-23に公開; 許諾条件により本文は2018-07-01に公開

京都大学	博 士 （ 工 学 ）	氏名	竹 本 直 紘
論文題目	Protective Strategies for Enhancing Engraftment of Insulin Releasing Cells (移植インスリン分泌組織の機能維持に適した環境の構築法)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>本論文は、細胞移植治療、特にランゲルハンス氏島（膵島）移植によるインスリン依存性糖尿病の治療に焦点を当て、移植の際に生じる生体反応の制御方法に関する研究をまとめたものであって、序論、本編2編5章、結語からなっている。</p> <p>序論では、細胞・臓器移植の現状とその問題点、特に移植片に対する生体反応について概説し、その解決策として“細胞表面修飾”と“異種細胞複合化再構築”を提案し、当該有用性と利用可能性について言及している。</p> <p>第1章から第3章で構成される第1編では、両親媒性高分子である単鎖 DNA ポリエチレングリコール脂質複合体（ssDNA-PEG-脂質）を用いて細胞の表面にタンパク質、リポソームや細胞を固定化し、細胞に新たな生理活性を付与する研究を行っている。</p> <p>第1章では、経門脈的に肝臓へ膵島を移植した際の膵島表面での血液凝固を防止することを目指して、ssDNA-PEG-脂質を利用し、膵島表面に線溶系酵素であるウロキナーゼを固定化した。ssDNA-PEG-脂質を細胞に作用させると、リン脂質のアルキル鎖部位が細胞膜に投錨され、一方、水溶性である ssDNA-PEG は細胞膜の外側に留まる。これを利用し、ウロキナーゼに相補鎖である ssDNA'を結合しておくことで、DNA の相補対形成により、細胞表面へのウロキナーゼの固定化を実現した。ウロキナーゼ固定化膵島は、膵島の形状・機能を正常に維持し、ウロキナーゼの線溶活性を保持していた。ssDNA-PEG-脂質により、細胞の形状・機能を維持しながら、その DNA の配列を変更することで、理論上ほぼあらゆるタンパク質を活性を失うことなく細胞表面に固定化できることを示唆している。</p> <p>第2章では、臓器移植において血液再灌流の際に移植臓器血管内で生じる酸化物質の生成を抑制することを目指して、ssDNA-PEG-脂質を利用し、血管内皮細胞表面に抗酸化剤であるビタミン E 封入リポソームを固定化し、さらに細胞内部へ導入している。内皮細胞のモデルとしてヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を用い、ssDNA-PEG-脂質を作用させ、細胞表面に ssDNA-PEG を導入した。一方、相補配列を有する ssDNA'-PEG-脂質をビタミン E 封入リポソームに作用させ、同様に、リポソーム表面に ssDNA'-PEG を導入した。両者を混合することで、DNA の相補対形成により HUVEC 表面にリポソームを固定化することに成功した。また、固定化されたビタミン E 封入リポソームは経時的に細胞内へ取り込まれ、細胞内部での活性酸素種の発生を抑制した。移植臓器血管内に同様の処理を行うことで、臓器移植時の再灌流障害においても、その防止が期待される。</p> <p>第3章では、免疫抑制剤の投与を必要としない膵島移植法の開発を目指して、ssDNA-PEG-脂質を利用し、膵島表面に免疫抑制能を有するセルトリ細胞を固定化している。免疫特権部位である精巣に存在するセルトリ細胞は、移植膵島近傍に存在しないと、その免疫抑制活性は発揮されない。現在の膵島移植の臨床では、カテーテルを用いて経門脈的に肝臓へ膵島のサスペンションが注入されるが、このような方法では血流などにより、セルトリ細胞が移植膵島近傍に留まることが期待できない。ssDNA-PEG-脂質を利用し、膵島表面に ssDNA-PEG を、セルトリ細胞表面に相補鎖で</p>			

京都大学	博士（工学）	氏名	竹本直紘
<p>ある ssDNA'-PEG を、それぞれ導入し混合することで、DNA の相補対形成により膵島表面にセルトリ細胞を固定化できることを示している。セルトリ細胞固定化膵島は、両細胞機能を正常に維持しており、臨床に近い経門脈的な肝臓への移植後も、移植膵島近傍にセルトリ細胞が局在していた。移植膵島近傍に共移植したい細胞を維持する方法について記した本章は、臨床における膵島移植部位である肝臓でその効果を提示しており、意義がある。</p> <p>第4章および第5章で構成される第2編では、膵島と免疫抑制能を有する種々の細胞との共移植に関する研究を行っている。免疫抑制剤の代替として種々の免疫抑制能を有する細胞を用い、膵島と共移植する試みがある。臨床において膵島は経門脈的に肝臓へ移植される。他の細胞と共移植する場合、その免疫抑制能の十分な発揮には、肝臓において移植膵島近傍に当該細胞を維持する必要がある。そこで本編では、免疫抑制能を有する細胞と膵島細胞の複合化再構築を試みている。</p> <p>第4章では、免疫抑制剤の投与を必要としない膵島移植法の開発を目指して、セルトリ細胞と膵島の複合細胞凝集体を作製し、薬物誘導糖尿病マウスを用いた移植実験により、拒絶反応の抑制能を評価している。興味深いことに、中心にセルトリ細胞、外側に膵島細胞を配した当該複合細胞凝集体は、膵島、セルトリ細胞の両機能を維持し、薬物誘導糖尿病マウスの肝臓へ移植しても、免疫抑制剤の投与なしに長期に亘りその血糖値を正常に維持することに成功した。元来数千個の細胞凝集体である膵島をいったん単個細胞にした後、再度、凝集体とする様は一見不合理のように感じられるが、本章は単個細胞から適正な機能を有する三次元組織の構築を成し得た稀有な例と言える。適正な機能発揮には組織構築が必須であると考えられる iPS 細胞由来のインスリン分泌細胞等においても十分にその利用可能性を認めるものである。</p> <p>第5章では、免疫抑制剤の投与を必要としない膵島移植法の開発を目指して、制御性 T (Treg) 細胞と膵島の複合細胞凝集体を作製し、薬物誘導糖尿病マウスを用いた移植実験により、免疫制御能を評価している。前述したセルトリ細胞は、臨床応用を考慮した際、その細胞源（精巣）が大きな問題となる。Treg 細胞は末梢血からの分離が可能であり、細胞源の問題はない。また、免疫抑制機能に特化した細胞であり、免疫異常から生体を守っている。自己免疫疾患であるインスリン依存性糖尿病の膵島移植治療において、Treg 細胞の利用可能性への期待は大きい。セルトリ細胞を用いた場合とは異なり、複合細胞凝集体内において、膵島、Treg 細胞は混在していたが、薬物誘導糖尿病マウスの肝臓へ移植しても、免疫抑制剤の投与なしに長期に亘りその血糖値を正常に維持することに成功した。Treg 細胞は体内の免疫系を制御している細胞である。全身投与は当該均衡を崩壊させる可能性があり、本来避けたいところである。本章は、局在化させた Treg 細胞の免疫抑制活性能を示唆したものであり、新たな移植免疫治療法の第一歩と言える。</p> <p>結語では、本論文の内容について要約している。</p>			